

ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЕЙРОТОКСИЧНОЙ НЕПРОТЕИНОГЕННОЙ АМИНОКИСЛОТЫ В ПИЩЕВОМ СЫРЬЕ С ПОМОЩЬЮ ЖИДКОСТНОЙ ТАНДЕМНОЙ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ.

Ахметгариева Д. Н.

Научный руководитель: к.т.н., Бараненко Д.А.

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИНФОРМАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ,
МЕХАНИКИ И ОПТИКИ

Нейродегенеративные заболевания являются на сегодняшний день всё более актуальной проблемой. Прежде всего, это связано с повышением уровня медицины в развитых странах и вследствие этого с увеличением продолжительности жизни. Поэтому особое внимание на себя обращают заболевания, характерные для людей преклонного возраста, такие как болезнь Альцгеймера, Паркинсона, боковой амиотрофический склероз и другие.

Ещё в 50-х годах 20 века учёные заметили связь между потреблением группами людей определённых продуктов питания и увеличением частоты возникновения нейродегенеративных заболеваний. А именно это впервые наблюдалось у Чаморро - коренных жителей острова Гуам, употребляющих в пищу растения семейства Саговниковые. Так же в их традиционный рацион входит мясо летучих лисиц.

Позже учёным удалось выделить их саговника аминокислоту Бета-N-метиламин-L-аланин (ВМАА). Было выяснено, что данная аминокислота и является причиной столь широкого распространения нейродегенеративных заболеваний. Так же выяснилось, что саговник (*Cycas micronesica*) является симбионтом цианобактерий родов *Nostoc* и *Anabaena*, продуцирующих Бета-N-метиламин-L-аланин и распространённых повсеместно.

ВМАА - это непротеиногенная полярная аминокислота производная аминокислоты аланина с метиламино-группой на боковой цепи. Является нейротоксином. Обнаруживается в спинномозговой жидкости, собранной у пациента с боковым амиотрофическим склерозом (БАС), что свидетельствует о способности токсина преодолевать гематоэнцефалический барьер и легко проникать в ЦНС. Аминокислота может ошибочно приниматься клеточным механизмом за L-серин во время трансляции и ошибочно интегрироваться в белки. Это приводит к неправильному сворачиванию белка и вследствие этого к апоптозу нейронов. Так же ВМАА схожа по строению с глутаматом - нейротрансмиттером в нервной системе позвоночных, вовлечённым в такие когнитивные функции, как обучение и память. ВМАА увеличивает отклик глутаматного рецептора, что приводит к гибели нейронов. В глутаматергическом синапсе токсин активирует специфические рецепторы, что приводит к увеличению внутриклеточного Ca^{2+} , способствующего ЭР-стрессу, также запускающему апоптоз нервных клеток.

Токсин может быть обнаружен с помощью различных лабораторных методов идентификации веществ. Но наиболее эффективным является метод жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии. Данный метод определения содержания ВМАА в продукте очень точен, но, так же, требует тщательной пробоподготовки. Для выделения аминокислоты из ткани требуется провести лизис образцов и кислотный гидролиз белков в соляной кислоте при $110^{\circ}C$ около 18 часов. Центрифугировать гидролизат 3 мин при 15800 g. Высушивать с использованием speed-vac. Затем провести суспендирование в 0,1 м ТХУ и обработать хлороформом для удаления остаточных липидов. Дериватизировать с использованием б-аминохинолил-N-гидроксисукцинимидилкарбамата (АQC); с последующим жидкостным хроматографическим разделением (ЖХ) и тандемным масс-спектрометрическим (МС / МС) детектированием аналитов.

Так как цианобактерии, синтезирующие ВМАА, встречаются практически везде, в том числе в пресных и солёных водоёмах, проблема возникновения вследствие этого нейродегенеративных заболеваний является актуальной и для россиян, активно потребляющих морепродукты. ВМАА способна передаваться по пищевым цепям рыбам и человеку. Для анализа будет взята мышечная ткань донных рыб Балтийского моря. Данная аминокислота уже была обнаружена учёными во многих океанических рыбах, и шанс обнаружить её в рыбе, поступающей на российские рынки достаточно велик. Наличие токсичной аминокислоты в морепродуктах возможно направит на планирование определённых диет, для людей подверженных риску возникновения нейродегенеративных заболеваний.